

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

| | | |
|--|--|---|
| (51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 9/107, 9/48, 7/00 | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 96/33697 (43) Date de publication internationale: 31 octobre 1996 (31.10.96) |
| <p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/00531</p> <p>(22) Date de dépôt international: 24 avril 1995 (24.04.95)</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM [IL/FR]; Gibur, 59, rue Edouard-Vaillant, F-92300 Levallois-Perret (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BENITA, Simon [IL/IL]; 33/3 Arazim Street, 90805 Mevasseret Zion (IL). KLEINSTERN, Jackie [IL/IL]; 512/6 Mordechai Elkachi Street, East Talpiot, 93807 Jerusalem (IL). GERSHANIK, Tatyana [IL/IL]; 306/25 Margalit Street, Gilo, 93847 Jerusalem (IL).</p> <p>(74) Mandataire: BURTIN, Jean-François; Cabinet GEFIB, 85, rue Anatole-France, F-92300 Levallois-Perret (FR).</p> | <p>(81) Etats désignés: AU, BR, CA, CZ, HU, JP, KR, MX, NO, NZ, US.</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p> | |
| <p>(54) Title: SELF-EMULSIFIABLE FORMULATION PRODUCING AN OIL-IN-WATER EMULSION</p> <p>(54) Titre: FORMULATION AUTO-EMULSIONNABLE FORMANT UNE EMULSION HUILE DANS L'EAU</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns a self-emulsifiable formulation (SEOF) comprising an oily constituent and a surfactant, the SEOF being characterized in that the oily constituent contains an oily vector and a cationic lipid and, optionally, a lipophilic oily fatty alcohol. The oil-in-water emulsion produced by mixing the SEOF comprises positively charged oil droplets.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>Une formulation auto-émulsionnable (SEOF) contenant un composant huileux et un agent tensioactif, le SEOF étant caractérisé en ce que le composant huileux contient un vecteur huileux et un lipide cationique et, éventuellement, un alcool gras huileux lipophile, l'émulsion huile dans l'eau qui se forme par mélange du SEOF, ayant des gouttelettes huileuses qui sont chargées positivement.</p> | | |

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | |
|----|---------------------------|----|--|----|-----------------------|
| AT | Arménie | GB | Royaume-Uni | MW | Malawi |
| AT | Autriche | GE | Géorgie | MX | Mexique |
| AU | Australie | GN | Guinée | NE | Niger |
| BB | Barbade | GR | Grèce | NL | Pays-Bas |
| BE | Belgique | HU | Hongrie | NO | Norvège |
| BF | Burkina Faso | IE | Irlande | NZ | Nouvelle-Zélande |
| BG | Bulgarie | IT | Italie | PL | Pologne |
| BJ | Bénin | JP | Japon | PT | Portugal |
| BR | Brazil | KE | Kenya | RO | Roumanie |
| BY | Bélarus | KG | Kirghizistan | RU | Fédération de Russie |
| CA | Canada | KP | République populaire démocratique de Corée | SD | Soudan |
| CF | République centrafricaine | KR | République de Corée | SE | Suède |
| CG | Congo | KZ | Kazakhstan | SG | Singapour |
| CH | Suisse | LI | Liechtenstein | SI | Slovénie |
| CI | Côte d'Ivoire | LK | Sri Lanka | SK | Slovaquie |
| CM | Cameroun | LR | Libéria | SN | Sénégal |
| CN | Chine | LT | Lituanie | SZ | Swaziland |
| CS | Tchécoslovaquie | LU | Luxembourg | TD | Tchad |
| CZ | République tchèque | LV | Lettonie | TG | Togo |
| DE | Allemagne | MC | Monaco | TJ | Tadjikistan |
| DK | Danemark | MD | République de Moldova | TT | Trinité-et-Tobago |
| EE | Estonie | MG | Madagascar | UA | Ukraine |
| ES | Espagne | ML | Mali | UG | Ouganda |
| FI | Finlande | MN | Mongolie | US | Etats-Unis d'Amérique |
| FR | France | MR | Mauritanie | UZ | Ouzbékistan |
| GA | Gabon | | | VN | Viet Nam |

FORMULATION AUTO-EMULSIONNABLE FORMANT UNE EMULSION HUILE DANS L'EAU

Domaine de l'invention

5 La présente invention concerne une formulation auto-émulsionnable essentiellement hydrophobe, à savoir : une formulation qui, en mélange dans l'eau, se désintègre spontanément pour former une émulsion huile dans l'eau. La présente invention concerne aussi l'utilisation pharmaceutique d'une telle formulation à la fois (i) comme un véhicule de délivrance de médicaments lipophiles ou (ii) comme un précurseur
10 pour la préparation d'une émulsion huile dans l'eau utile à son tour comme véhicule de délivrance de médicaments hydrophobes.

Une application de la formulation inventive est l'administration orale d'un médicament destiné à être absorbé dans le tube gastro-intestinal (GI) et, ensuite,
15 atteindre l'organe cible par le sang ou le système lymphatique. Une telle forme d'administration sera dénommée ci-après "administration systémique par voie orale".

Une application particulière de la réalisation préférée précédente est l'administration systémique par voie orale d'un médicament tel que la physostigmine, le probucol, la
20 cyclosporine A, la morphine base, la penclomédine et les autres.

La reconnaissance ci-après de l'art antérieur ne doit pas être interprétée comme l'admission que cet art est de quelque manière pertinent pour la brevetabilité de l'invention comme définie ici.

25

Arrière-plan de l'invention

L'administration systémique par voie orale de médicaments, en général, est le mode préféré d'administration dans les régimes de traitement qui requièrent une administration répétée de médicaments pendant plusieurs périodes de temps.
30 Tandis que l'administration systémique par voie orale est très efficace en ce qui concerne les médicaments solubles dans l'eau, il est prouvé qu'elle est une voie d'administration problématique pour les médicaments hydrophobes ou les médicaments ayant une solubilité aqueuse limitée comme la physostigmine base,

l'isradipine, la virginiamycine, la cyclosporine A, la morphine, la buprénorphine, la nalorphine, le méthorfan, le probucol et autres.

- Le faible effet systémique atteint avec les médicaments hydrophobes administrés oralement, résulte d'un certain nombre de facteurs. Premièrement, les médicaments hydrophobes ne sont pas solubles dans l'eau et forment une phase séparée dans les solutions aqueuses et ainsi ne sont pas facilement disponibles pour l'absorption par les parois du tube gastro-intestinal.
- De plus, certains médicaments hydrophobes, qui sont absorbés principalement par les parois de l'intestin grêle, particulièrement à travers le jéjunum, peuvent subir un effet nommé "effet de premier passage", c'est-à-dire un passage de médicaments dans le foie préalablement à atteindre le système sanguin.
- L'effet total de ces facteurs est que seulement une faible, souvent non efficace, quantité de médicaments hydrophobes administrés atteint finalement l'(es) organe(s) cible, c'est-à-dire que les médicaments hydrophobes administrés oralement ont généralement une faible biodisponibilité.
- Ceci peut être surmonté en augmentant la dose de médicament, mais une telle augmentation peut, cependant, entraîner une incidence accrue des effets secondaires, étant donné l'absorption erratique et variable inter-individus.
- Il y a eu des propositions variées pour augmenter la biodisponibilité des médicaments hydrophobes. Par exemple, des études précédentes utilisant un acide oléique contenant un médicament lipophile dissout, ont démontré un effet bénéfique sur la biodisponibilité du médicament (Stella et al., 1978, J.Pharm.Sci, 67, 1375-1377). Récemment, on a montré que la biodisponibilité du propranolol, après administration orale, peut être améliorée en dissolvant le médicament dans une formulation lipidique contenant principalement de l'acide oléique et en le conditionnant dans une capsule en gélatine dure gastro-protégée (Barnwell et al, 1992, Int. J. Pharmaceutics, 88, 423-432).

Des émulsions ont été proposées comme vecteurs dans les formulations orales de médicaments hydrophobes en général (Pal et al, 1984, J. Int. Pharm, 33, 99-104; Myers et al, 1992, Int. J. Pharm, 78, 217-226) et pour des médicaments comme la physostigmine en particulier (Rubinstein et al, 1991, J. Pharm. Res, 80, 643-647; Friedman et al, 1989, Drug Design and Delivery, 4, 135-142; Benita et al, 1989, Drug Delivery Design, 4, 143-153). Les particules colloïdales de l'émulsion qui transporte le médicament sont absorbées dans le jéjunum et sont probablement évacuées principalement par la lymphe à travers le canal thoracique, passant par dérivation ainsi le foie et réduisant grandement "l'effet de premier passage". En effet, la biodisponibilité orale de plusieurs médicaments lipophiles a été montrée comme étant quelque peu améliorée en utilisant des émulsions comme véhicules pour leur administration systémique par voie orale.

Cependant, dans de nombreux cas, les formulations émulsionnables n'ont pas apporté d'amélioration dans la biodisponibilité de médicaments hydrophobes face à leur administration dans des solutions aqueuses.

Ceci est particulièrement le cas au regard des médicaments comme la physostigmine, qui est un médicament amphiphile dans l'émulsion dans le film interfacial huile/eau.

Pendant le passage d'une émulsion contenant de la physostigmine à travers le tube digestif, l'émulsion, qui est pratiquement infiniment diluée, libère rapidement le médicament contenu dans celle-ci. Ce problème est considérablement augmenté par la très forte acidité dans l'estomac, qui a tendance à réduire la stabilité des particules colloïdales de l'émulsion.

Certaines solutions lipidiques, en raison de leurs ingrédients, ont la capacité de subir une émulsification spontanée quand elles sont introduites dans une phase aqueuse après une agitation douce fournissant des émulsions huile dans l'eau. De telles solutions lipidiques sont définies dans la littérature comme systèmes de délivrance auto-émulsionnables (Charman et al, 1992, Pharm. Res, 9, 87-93). Des systèmes de délivrance auto-émulsionnables ont été formulés en employant des huiles de

triglycérides à chaîne moyenne et des agents tensioactifs non-ioniques qui, selon leur nature exacte, peuvent former la base d'un système de délivrance de médicament auto-émulsionnable (Pouton, 1985a, Int. J. Pharm, 27, 335-348; Pouton 1985b, Int. J. Pharm, 37, 1P; Pouton et al, 1987, Proc. Int. Symp. Control. Rel, Bioacta. Mater, 14, 113-117; Wakerly et al, 1986, ACS. Symp. Ser. 311, 242-255; Wakerly et al, 1987, J. Pharm. Sci, 67, 1375-1377). Ces formulations peuvent être encapsulées dans des capsules molles de gélatine ou dans des capsules de gélatine dures scellées pour fournir des systèmes de dosage unitaire précis et commodes.

10

Des études antérieures dans l'intestin grêle ont établi clairement que l'intérieur des cellules d'absorption est négatif par rapport à la solution muqueuse (Csaky, IL (Ed), Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 70, Springer-Verloy, Berlin, (1984), 324-325). On a également décrit le fait que certains médicaments cationiques hydrophobes complètement ionisés sur toute l'étendue de pH du tube digestif, sont absorbés rapidement en dépit de leur faible solubilité dans l'eau (Iseky, K. Hirano, T. Fukushi, Y. KITAMURA, Y. Miyazaki, S. Takada, K. Sugawara, M. Saiton, H and Miyazaki, K (1992), J.Pharm.Pharmacol. 44:9, 724-726; Saiton, H. Kawai, S. Iseki, K. Miyazaki, K and Arita, T. (1988), J.Pharm.Pharmacol, 41, 200-202). En outre, certains composés endogènes se lient aux surfaces endothéliales par leur groupe NH₂ terminal indiquant l'importance physiologique des interactions électrostatiques.

20

La formation de gouttelettes huileuses contenant un médicament dissout amène la distribution du médicament à travers tout le tube digestif tout en fournissant une large surface interfaciale pour la répartition du médicament entre l'huile et la phase aqueuse environnante. Ainsi, pour des médicaments ayant une solubilité aqueuse limitée qui sont peu absorbés dans le tube digestif, la désintégration spontanée de la phase lipidique en gouttelettes huileuses très finement dispersées, peut offrir une amélioration à la fois dans la vitesse et la proportion de l'absorption. Tous les systèmes de délivrance de médicament auto-émulsionnants connus actuellement contiennent des concentrations importantes de tensioactifs (jusqu'à 50%) qui sont soit non-ioniques (comme le Tween[®] ou le Span[®]) ou des tensioactifs anioniques

30

(comme les phospholipides), ce qui entraîne la formation de gouttelettes huileuses ayant une charge soit neutre, soit électronégative.

5 Dans une publication récente (Elbaz et al, 1993, Int. J. Pharm, 96, R1-R6), un système de délivrance de médicament en émulsion a été décrit dans lequel les particules colloïdales portent une charge positive. Cependant, aucune mention n'a été faite, dans cette publication, de la possibilité d'employer de telles émulsions comme véhicule de délivrance de médicament systémique par voie orale.

10 C'est un objet de la présente invention de fournir une formulation auto-émulsionnable utile comme système de délivrance de médicament pour les médicaments lipophiles.

15 C'est un objet supplémentaire de l'invention de fournir un nouveau système de délivrance de médicament pour l'administration orale systémique de médicaments lipophiles.

C'est encore un autre objet de l'invention de fournir un procédé de production d'une émulsion par l'emploi d'une préparation huileuse auto-émulsionnante.

20

Description générale de l'invention

Conformément à l'invention, une nouvelle formulation huileuse auto-émulsionnable (SEOF) est fournie. Lorsque la formulation selon l'invention est mélangée avec une solution aqueuse et que le mélange est agité, une émulsion huile dans l'eau se
25 forme. Conformément à une réalisation préférée de l'invention, les gouttelettes dans l'émulsion ainsi formées ont un diamètre en-dessous d'environ 0,2µm.

Les émulsions ayant des gouttelettes minuscules comme celles que l'on peut obtenir conformément à l'invention, ont été jusqu'ici obtenues seulement en employant une
30 procédure d'homogénéisation complexe impliquant l'emploi d'un équipement compliqué (voir par exemple, Benita et al, 1989, Drug Delivery Designn 4, 143-153).

Une caractéristique supplémentaire des SEOF de l'invention est le fait que les gouttelettes dans l'émulsion formée sont chargées positivement au contraire des émulsions chargées négativement, réalisées avec les SEOF de l'art antérieur.

- 5 Les SEOF de l'invention comprennent un support huileux qui peut être une huile de triglycéride à chaîne moyenne (MCT), un triglycéride à longue chaîne (LCT) et un dérivé d'acide gras huileux. En supplément, les SEOF comprennent aussi un lipide cationique. On a trouvé, conformément à l'invention, que l'addition d'un alcool lipophile est nécessaire pour obtenir des gouttelettes en émulsion dans la gamme
10 inférieure au micron ($<1\mu\text{m}$). L'incorporation d'un alcool lipophile dans les SEOF de l'invention est ainsi préférée.

- La présente invention ainsi procure une formulation huileuse auto-émulsionnable (SEOF) contenant un composant huileux et un agent tensioactif, le SEOF étant
15 caractérisé en ce que le composant huileux contient un vecteur huileux et un lipide cationique et, éventuellement, un alcool lipophile, l'émulsion huile dans l'eau qui se forme par mélange du SEOF ayant des gouttelettes huileuses qui sont chargées positivement.

- 20 Les SEOF de l'invention peuvent être employés comme véhicule de délivrance pour des médicaments hydrophobes. Lorsqu'un tel véhicule de délivrance ayant les médicaments dissous dedans, vient en contact avec un liquide corporel, il s'émulsionne spontanément en formant des gouttelettes huileuses minuscules avec le médicament contenu à l'intérieur.

- 25 Un exemple spécifique d'un tel véhicule de délivrance est celui qui est destiné à l'administration systémique par voie orale de médicaments hydrophobes. Pour une telle administration, le SEOF ayant les médicaments dissous, est de préférence encapsulé.

- 30 La présente invention ainsi procure une composition pharmaceutique contenant une quantité efficace d'un médicament hydrophobe dissout dans un vecteur liquide, la préparation étant caractérisée en ce que ledit vecteur est le SEOF décrit ci-dessus.

Des réalisations spécifiques de ladite préparation sont les préparations systémiques pour la voie orale.

5 Le terme "quantité efficace" doit être compris comme signifiant une dose du médicament efficace pour exercer un effet thérapeutique. Pour une préparation orale de l'invention, le terme "quantité efficace" signifie une dose de médicament qui, après absorption dans le corps à travers les parois du tube digestif, procure une concentration de médicament dans le sang qui est efficace pour exercer un effet thérapeutique sur un organe cible.

10 L'invention fournit aussi une méthode d'administration d'un médicament hydrophobe aux emplacements dans le corps, par exemple le tube digestif, dans le sang où la préparation entre en contact avec les liquides corporels, comprenant l'administration du médicament dans un véhicule huileux qui est le SEOF décrit ci-dessus.

15 Un autre emploi du SEOF de l'invention est dans un procédé de production d'émulsions, en particulier celles ayant des gouttelettes dans la gamme inférieure au micron (émulsions submicroniques). Une réalisation spécifique est dans la préparation d'émulsions contenant un médicament hydrophobe et destinée à être
20 utilisée comme préparations pharmaceutiques. Ainsi, la présente invention procure un procédé pour la production d'une émulsion qui comprend le mélange dudit SEOF avec une solution aqueuse et le fait d'ajouter le mélange.

Lorsque l'émulsion doit être utilisée comme un vecteur de médicaments
25 hydrophobes, la formulation auto-émulsionnable (SEOF) doit avoir ledit médicament dissout dans celle-ci.

Description détaillée de l'invention

30 Conformément à l'invention, une nouvelle formulation huileuse auto-émulsionnable a été préparée. Cette formulation SEOF peut être utilisée dans des préparations pharmaceutiques comme un vecteur de médicaments hydrophobes, ou peut être employée comme précurseur pour la préparation d'émulsions, en particulier d'émulsion inférieure à un micron.

Les formulations SEOF de l'invention comprennent un agent tensioactif et un composant huileux contenant un lipide cationique et au moins un MCT, un LCT et un dérivé d'acide gras huileux. Le composant huileux contient un alcool gras huileux
5 comme ingrédient éventuel. En outre, le composant huileux peut aussi inclure d'autres ingrédients comme cela sera spécifié ci-dessous. Evidemment, tous les principes actifs utilisés doivent être physiologiquement compatible.

L'huile MCT est une huile triglycéridique dans laquelle la chaîne hydrocarbonée a en
10 moyenne environ 8 à 12 atomes de carbone. Des exemples d'huiles MCT sont le TCM [™] (Société des Oléagineux France) qui est un mélange de triglycérides dans lesquels environ 95% des chaînes d'acide gras ont, soit 8 ou 10 atomes de carbone, ou bien le Myglyol 812 [™] (Dynamit Nobel Suède) qui est un mélange de triesters de glycerol et d'acides caprylique et caprique.

15 L'huile LCT est une huile triglycéridique dans laquelle la chaîne hydrocarbonée a une longueur de chaîne moyenne au-dessus de 12 atomes de carbone. Des exemples d'huiles LCT qui peuvent être employées conformément à la présente invention sont l'huile d'arachide, l'huile de carthame, l'huile de sésame, l'huile de
20 soja, l'huile de graines de coton, l'huile d'olive.

Les dérivés d'acides gras huileux peuvent être divers acides gras substitués lipophiles, par exemple, des esters avec des alcanols, les exemples étant les esters méthyliques ou éthyliques d'acide gras comme l'oléate d'éthyle.

25 Les lipides cationiques sont des lipides qui ont un groupe polaire chargé positivement. Des exemples de lipides cationiques sont les amines à chaîne alcoyle grasses en C₁₀ à C₂₄ et les alcanoylamines grasses en C₁₂ à C₂₄, les alcoylamines grasses en C₁₂ à C₁₈ et les alcanoylamines grasses en C₁₂ à C₁₈ étant préférées. Des
30 exemples spécifiques de lipides cationiques sont la stéarylamine et l'oleylamine. En supplément aux lipides cationiques, le composant huileux peut aussi inclure des agents tensioactifs cationiques tels qu'un ester cationique de cholestérol et des dérivés cationiques de cholestérol, par exemple, le betainat de cholestérol.

Les alcools gras huileux comprennent divers alcools lipophiliques comme des alcools d'acides gras, par exemple, l'alcool oleylique ou des alcools aryliques, par exemple, l'alcool benzylique, l'alcool éthylique ou tout autre alcool non toxique lipophile.

En supplément aux ingrédients désignés ci-dessus, ledit composant huileux peut aussi comprendre divers autres ingrédients huileux y compris d'autres types d'huile végétale, d'huile minérale ou de myristate d'isopropyle. En outre, le composant huileux peut aussi inclure des lipides neutres ou anioniques, la quantité de lipides anioniques étant telle de façon à ne pas éliminer complètement la charge positive des gouttelettes d'émulsion.

Les agents tensioactifs employés dans la formulation SEOF peuvent être tout agent parmi ceux connus "per se". L'agent tensioactif est de préférence un agent tensioactif non ionique et, peut être, par exemple, un Tween, par exemple le Tween 80 et le Tween 85; des Span, par exemple Span 80 ou un glycéride polyoxyéthylénique glycosylé, par exemple Labrafil M1944 CS[™] (Gattefosse Corp, USA).

D'autres exemples d'agents tensioactifs non-ioniques sont les esters de sorbitol et d'acide gras, comme le monooléate de sorbitanne et les sucrose-esters huileux comme le mono-, di- ou tripalmitate de sucrose. En supplément aux agents tensioactifs non-ioniques, on peut utiliser aussi des agents tensioactifs ioniques comme les phospholipides, la quantité de tels agents tensioactifs ioniques doit être telle qu'elle n'élimine pas la charge positive des gouttelettes d'émulsion. De temps en temps, il est utile d'employer une combinaison de différents agents tensioactifs comme une combinaison de Tween 80 et de Span 80, ou bien de Tween 85 et de Span 80.

L'application pharmaceutique typique de la formulation SEOF de l'invention est l'administration orale systémique de médicaments hydrophobes. Pour cette administration, la formulation SEOF ayant le médicament dissout à l'intérieur, va être

de préférence encapsulé dans une capsule molle ou dure de gélatine scellée. La capsule est typiquement d'un genre qui est dissout dans une région particulière du tractus gastro-intestinal en libérant là son contenu.

5 Un exemple d'une telle capsule est une capsule molle ou dure de gélatine gastro-protégée. L'enrobage entérique comme c'est connu "per se", est un enrobage avec une substance ou une combinaison de substances qui résiste à la dissolution dans le suc gastrique mais qui se désintègre dans les intestins. Des exemples d'enrobages entériques sont le phtalate d'hydroxypropyl méthylcellulose BP. Par
10 suite de l'enrobage entérique, la capsule est résistante à la dissolution dans les parties supérieures du tube digestif et ainsi, ne se dissout que dans l'intestin, par exemple, par suite du contact avec les acides biliaires et les sels dans le jéjunum. Les gouttelettes d'émulsion, particulièrement celles contenant du LCT, par exemple de l'huile de soja, sont vraisemblablement absorbées dans le jéjunum par
15 l'intermédiaire du système lymphatique dans les chylomicrons qui sont écartés de l'intestin grêle à travers le canal thoracique, puis effectuant un by-pass du foie. Une telle voie d'absorption réduit ainsi d'une manière importante l'effet de premier passage de la dégradation du médicament dans le foie.

20 Les capsules commercialement accessibles, s'échelonnent en taille jusqu'à celles ayant un volume interne d'environ 0,7 ml. A partir des expériences conduites conformément à la présente invention, il va devenir évident que ce volume est suffisant pour la délivrance d'une quantité efficace de médicament, comme la physostigmine, de façon à réaliser un effet systémique.

25 Pour l'emploi pharmaceutique de la formulation SEOF de l'invention, des agents conservateurs comme le méthylparaben, le propylparaben, le butylparaben ou une combinaison de ceux-ci ainsi que des agents anti-oxydants comme le gallate de propyle, le BHT ou le dimercaptol peuvent être employés. En outre, préalablement à
30 l'emploi, la préparation est de préférence stérilisée par filtration.

L'invention va maintenant être davantage illustrée dans les exemples suivants et les dessins annexés.

Brève description des dessins

Dans les dessins :

5 Figure 1 : montre la taille moyenne d'une gouttelette en fonction du taux de dilution de la formulation SEOF dans la phase aqueuse. La formulation SEOF était formée de 25% de Tween 80, 12,5% d'alcool benzylique, 2,5% d'oleylamine et de l'oléate d'éthyle pour 100%. Les détails de ces expériences sont décrits dans l'exemple IV.

10 Figure 2 : montre les résultats d'une expérience similaire à celle montrée à la figure 1, également décrite dans l'exemple IV, avec la différence étant que la concentration de Tween 80 était de 35%.

Figure 3 : montre les résultats d'une expérience décrite à l'exemple IV dans laquelle la taille moyenne de gouttelettes a été testée par rapport à la durée dans trois dilutions différentes de la formulation SEOF en phase aqueuse. La formulation SEOF était formée de 25% de Tween 80, 12% d'alcool benzylique, 2,5% d'oleylamine et d'oléate d'éthyle pour 100%. Le niveau de pH de la phase aqueuse était de 5,0.

Figure 4 : montre les résultats d'une expérience similaire à celle de la figure 3, également décrite à l'exemple IV avec la différence étant en ce que le niveau du pH de la phase aqueuse était de 2,5 (ajusté avec un tampon phtalate).

20 Figure 5 : montre les résultats d'une expérience dans laquelle l'inhibition de la choline esterase en fonction du temps suivant l'administration PO de trois formulations différentes de physostigmine.

25 Figure 6 : montre les concentrations sériques de Progestérone après administration de SEOF positif et négatif contenant le médicament ainsi que l'expérience avec la progestérone en suspension dans l'eau et une formulation à blanc.

Méthodes expérimentales

1. Evaluation de la taille des particules

30 La taille des gouttelettes de particule de la formulation SEOF, se désintégrant a été déterminée en utilisant un appareil super-Nanosizer (Coulter N4) dans lequel les tailles de particules sont évaluées par spectroscopie de corrélation par photons. Préalablement à l'évaluation, les préparations ont été diluées en employant une solution de glycérol à 2,25% filtrée et traitée aux ultrasons.

2. Charge de l'émulsion

La charge de l'émulsion a été déterminée par mobilité électrophorétique. Une émulsion de graisse standard chargée négativement (Intralipid[®] Kabi-Vitrum, Suède) immergée dans la solution de glycérol à 2,25% se déplace dans la direction de l'électrode positive étant donné la charge négative des gouttelettes huileuses en dispersion. Les diverses formulations huileuses émulsionnées (dans le suc gastrique et dans le suc intestinal USP) migraient dans la direction opposée en direction de l'électrode négative validant la charge positive des gouttelettes d'huile.

10

3. Potentiel Zêta

Le potentiel Zêta a été mesuré en employant la technique d'électrophorèse limite en déplacement. La valeur du potentiel Zêta des gouttelettes d'huile formées spontanément, a été déterminée en utilisant un Zetasizer[™] (Delsa 440 Coulter) en employant une solution de glycérol à 2,25%^{v/v} comme diluant.

15

4. Observations visuelles

Le degré de stabilité de la formulation et le degré de séparation de phase dans l'émulsion dérivée de ces formulations ont été déterminés visuellement à des intervalles de temps donnés. Aucun changement visible n'a été enregistré.

20

EXEMPLE I

Préparation de la formulation SEOF

Les SEOF ont été préparés avec les étapes suivantes :

25

1. l'alcool gras et la plus grande partie du vecteur huileux ont été mélangés dans une fiole.
2. un agent tensioactif a été ensuite ajouté et rendu soluble par agitation
3. le lipide cationique a alors été ajouté et dissout dans le mélange ci-dessus. Dans le cas de la stéarylamine, un léger chauffage vers environ 37°C a été nécessaire pour solubiliser ce composant.
4. le poids final de la composition a été complété par addition du vecteur huileux restant.

30

5. le médicament peut être dissout soit dans l'alcool gras préalablement à son addition au mélange, soit ajouté après l'incorporation des autres ingrédients de la formulation avant de compléter au poids final avec le vecteur huileux.
6. seulement dans les exemples VI-X, le médicament y était inclus. Les exemples II-V ne contenaient pas de médicament.

Pour la formation de l'émulsion, la formulation préparée de SEOF a été mélangée avec de l'eau deux fois distillée ou avec du jus gastrique et intestinal artificiel (USP).

10 **EXEMPLE II**

Les SEOF qui se désintègrent en gouttelettes huileuses ayant un diamètre inférieur à 250 µm

Une gamme de SEOF a été préparée à partir des ingrédients suivants : Span, Tween 85, stéarylamine et huile d'arachide. Le tableau suivant donne la liste des quatre ingrédients montrant la gamme de concentration testée et la gamme de concentration préférée et une concentration typique pour chaque ingrédient qui produit une taille de particule minimale.

Tableau I

20

| Constituants | Concentrations préférées (% w/w) | Gamme de concentrations (% w/w) | Concentrations typiques (% w/w) |
|------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Span 80 | 25 - 30 | 15 - 40 | 25 |
| Tween 85 | 4 - 5 | 1 - 10 | 3 |
| Stearylamine | 2.5 - 3 | 1 - 3 | 3 |
| Huile d'arachide | | | to 100 |

Chacune des formulations était transparente sous forme liquide à 37°C et devenait opalescente et visqueuse à température ambiante. Les émulsions qui se sont formées à partir de ces formulations sont demeurées stables à température ambiante après quelques heures. La taille des particules des gouttelettes huileuses dans les émulsions, après agitation douce, s'est échelonnée de 50 à 250 µm.

En supplément à l'huile d'arachide, d'autres huiles LCT comprenant l'huile de carthame, l'huile de sésame, l'huile de soja, l'huile de graines de coton et l'huile d'olive ont été testées.

- 5 Les émulsions à l'intérieur de la gamme ci-dessus (50-250 μ m) ont été réalisées avec toutes ces huiles LCT. Les émulsions optimales ayant des gouttelettes à la partie inférieure de la gamme citée ci-dessus ont été obtenues avec les huiles d'arachide et de carthame.
- 10 En outre, l'huile MCT aussi a été testée à la place de l'huile d'arachide et on a montré qu'elle fournissait aussi des gouttelettes d'une taille à l'intérieur de la même gamme.

EXEMPLE III

- 15 **Les SEOF qui se désintègrent en gouttelettes d'huile submicroniques**
Les SEOF ont été préparés à partir des constituants suivants : Tween 80, Span 80, alcool oleylique, oleylamine et oléate d'éthyle. Les constituants d'une formulation typique, la gamme de concentration testée, pour chaque constituant, la gamme de concentration préférée et une concentration typique fournissant des gouttelettes de
- 20 taille minimale, sont mis en évidence dans le Tableau II

Tableau II

| Constituants | Concentrations préférées (%, w/w) | Gamme de concentrations (%, w/w) | Concentrations typiques (%, w/w) |
|------------------|---|--|--|
| Tween 80 | 25 - 30 | 15 - 40 | 25 |
| Span 80 | 1.5 - 2 | 0.5 - 3 | 1.5 |
| Alcool oleylique | 5 - 8 | 0 - 10 | 7.5 |
| Oleylamine | 2 - 2.5 | 1 - 3 | 2.5 |
| Oléate d'éthyle | | | to 100 |

- 25 La taille des gouttelettes des émulsions qui étaient formées à partir de ces SEOF s'échelonnait de 160 à 200 nm de diamètre avec une déviation standard de 60-70 nm. Les gouttelettes huileuses étaient chargées positivement.

- 30 Les émulsions étaient toutes stables à température ambiante pendant plusieurs semaines.

On a trouvé que la concentration en alcool oleylique dans la solution lipidique affectait la taille finale des gouttelettes. Les résultats sont montrés dans le tableau III suivant :

Tableau III

| Concentration en alcool oléylique (% w/w) | Diamètre des gouttelettes (nm) |
|--|-----------------------------------|
| 5 | 160 ± 60 |
| 10 | 200 ± 63 |
| 12.5 | 650 ± 900 |

Quand on utilisait du Tween 85 au lieu du Tween 80, une augmentation de la concentration en oleylamine jusqu'à 7-8% était nécessaire pour réaliser une émulsion positive. La taille de particules finale des gouttelettes dispersées résultant dans ce cas s'échelonnait de 1 à 2 µm.

L'Oléate d'éthyle était le seul solvant de ceux testés qui était capable de produire des émulsions dans la gamme submicronique.

EXEMPLE IV

Les SEOF qui se désintègrent en gouttelettes huileuses s'échelonnant de 20 à 200 nm.

Les SEOF étaient préparés à partir des ingrédients suivants : Tween 80, Alcool benzylique, oleylamine et oléate d'éthyle.

Les ingrédients dans l'échelle de concentration testée de chacun sont montrés dans le tableau IV.

Tableau IV

| Constituants | Gamme de concentration (%, w/w) |
|-------------------|------------------------------------|
| Tween 80 | 25 - 40 |
| Alcool benzylique | 0.5 - 50 |
| Oleylamine | 2.5 |
| Oléate d'éthyle | pour 100 |

Une formulation de ceux-ci qui contenait moins de 0,5% d'alcool benzylique n'était pas stable. Quand plus de 50% d'alcool benzylique était incorporé, aucune émulsion submicronique stable n'était réalisée.

5

Le tableau V suivant montre la taille de particules comme une fonction de la concentration en Tween 80 et en alcool benzylique (sous dilution constante avec la phase aqueuse de 1:1)

10

Tableau V

| | | | | | | |
|----------------------------|--------|--------|--------|-------|-------|------|
| Tween 80 (% w/w) | 25 | 25 | 25 | 25 | 35 | 40 |
| Alcool benzylique (% w/w) | 5 - 12 | 25 | 37.5 | 50 | 45 | 40 |
| Taille des particules (nm) | 191±60 | 175±63 | 110±38 | 86±30 | 37±14 | < 12 |

Comme on peut le voir, le plus petit diamètre de gouttelette est atteint avec une formulation contenant 40% de Tween 80 et une formulation contenant 40% d'alcool benzylique

15

La Figure 1 montre les résultats obtenus avec un SEOF qui est formé de 25% de Tween 80, 12,5% d'alcool benzylique, 2,5% d'oleylamine et d'oléate d'éthyle ajoutés pour un total de 100%. Comme le montre la figure 1, la taille des particules a diminué avec une dilution de phase aqueuse augmentée jusqu'à une dilution d'environ 1:500. Une dilution supplémentaire à 1:1000 a amené à une légère augmentation de la taille des gouttelettes.

20

Comme le montre la Figure 2, le même type de comportement était aussi constaté avec un SEOF différent contenant 35% de Tween 80 au lieu de 25% comme dans le SEOF de la figure 1.

25

La Figure 1, la Figure 2 et le tableau VI démontrent qu'une auto-émulsification efficace ne montre pas une dépendance élevée du pH, mais une certaine tendance à l'élargissement de la taille des gouttelettes était observée comme une fonction d'augmentation de pH.

30

Influence du pH sur la taille moyenne des gouttelettes comme une fonction du pH et de la durée.

Tableau VI

5

| pH | dilution | 0 jour | 1 jour | 7 jours | 34 jours |
|-----|----------|--------|--------|---------|-----------|
| 2.5 | 1/500 | 105±36 | 113±25 | 120±33 | 137±45 |
| | 1/1000 | 125±45 | 127±37 | 134±42 | 157±52 |
| 5.0 | 1/500 | 112±34 | 120±36 | 125±36 | 136±43 |
| | 1/1000 | 130±46 | 139±46 | 150±44 | 157±52 |
| 7.4 | 1/500 | 127±44 | 137±44 | 145±44 | 198±large |
| | 1/1000 | 137±48 | 146±52 | 151±56 | 188±large |

Référence est faite aux figures 3 et 4 montrant les résultats d'une expérience dans laquelle la stabilité des émulsions, comme mise en évidence par la taille moyenne de gouttelettes, a été testée au fur et à mesure des temps. Les SEOF, dans les deux cas, étaient formés de 25% de Tween 80, 12,5% d'alcool benzylique (BA), 2,5% d'oleylamine (OA) et d'oléate d'éthyle (EO) ajoutés pour faire 100%.

Dans l'expérience montrée à la figure 3, le pH était 5.0 tandis que le pH dans l'expérience de la figure 4 était 2.5. Comme il est montré, les émulsions qui s'étaient formées étaient stables pendant plus de 30 jours dans les conditions testées. Il doit être noté que sans une dilution de moins de 1:1000, les émulsions étaient stables pendant seulement une semaine environ. De plus, à un pH de la phase aqueuse de plus de 7.4, les émulsions étaient également stables pendant une période d'une semaine seulement.

20

EXEMPLE V

Le potentiel Zêta des gouttelettes, produit par SEOF

Les mesures quantitatives du potentiel Zêta ont été composées avec des émulsions, préparées à partir de SEOF, qui étaient décrites à l'exemple III. Les émulsions comprenaient différentes quantités d'oleylamine (0.5%). Le tableau VII montre les potentiels Zêta de ces émulsions, les émulsions résultant de la dilution des SEOF (1:10) comprenant différentes quantités d'oleylamine (0-0,5%), mesurées dans une solution de glycérine à 2,25%.

30

Comme il est montré, les SEOF, qui incluait de l'oleylamine étaient capables de produire des gouttelettes portant une charge positive.

Tableau VII

**Mesures au potentiel Zêta des émulsions produites
par dilution de SEDDS avec une solution
de glycérine à 2,25%**

| | Formulation (%, w/w) | Valeur du potentiel zêta à 25°C (mV) |
|----------------------------|--------------------------------------|--|
| Tween 80 BA EO | 25 12.5 pour 100 | - 8.4 |
| Tween 80 BA OA EO | 25 12.5 <u>2.5</u> pour 100 | + 15.8 |
| Tween 80 BA OA EO | 25 12.5 <u>5</u> pour 100 | + 33.3 |

EXEMPLE VI

Les SEOF avec les médicaments

- 15 La physostigmine, la cyclosporine A, le probucol et l'insuline (l'insuline était finement dispersée dans la formulation huileuse par exposition aux ultrasons pendant 5 mn en utilisant un bain d'ultrasons) étaient incorporées dans les SEOF et les formulations sont montrées au tableau VIII suivant :

Tableau VIII

| | Constituants | Concentration (% w/w) |
|----------|-------------------------------|-----------------------|
| 1 | Physostigmine Salicylate 0.6% | 25 % |
| | Span 80 | 25 % |
| | Tween 85 | 5 % |
| | Stearylamine | 3 % |
| | Huile d'arachide | qsp 100 % |
| 2 | Cyclosporine A | 5 % |
| | Tween 80 | 25 % |
| | Span 80 | 1.5 % |
| | Alcool oleylique | 7.5 % |
| | Oleylamine | 2.5 % |
| | Oléate d'éthyle | qsp 100 % |
| 3 | Probucol | 4 % |
| | Tween 80 | 25 % |
| | Alcool benzylique | 50 % |
| | Oleylamine | 2.5 % |
| | Oléate d'éthyle | qsp 100 % |
| 4 | Insuline | 0.5 % |
| | Tween 80 | 25 % |
| | Alcool benzylique | 12.5 % |
| | Oleylamine | 2.5 % |
| | Oléate d'éthyle | qsp 100 % |
| 5 | Progesterone | 10 % |
| | Tween 80 | 25 % |
| | Alcool benzylique | 30 % |
| | Oleylamine | 2.5 % |
| | Oléate d'éthyle | qsp 100 % |

EXEMPLE VII

Inhibition de la choline esterase par administration orale de physostigmine à des rats.

- 5 L'effet pharmacologique de la physostigmine (PS) administrée oralement sur des rats a été testée en modifiant une méthode précédemment décrite par Steffens A.B (1969, Physiology and Behavior, 4, 833-836). Des mâles rats Sabra ont été cannulés d'une manière chronique par la veine jugulaire un jour avant l'expérience, permettant un échantillonnage fréquent de sang d'un rat non anesthésié. Chaque groupe de
- 10 rats éveillés (3-4 animaux dans chaque groupe) a reçu per os (PO) une ou trois formulations de physostigmine (PS). Toutes les formulations ont été administrées à une dose de PS de 0.5 mg/kg. 0.1 ml d'échantillons de sang ont été prélevés à des intervalles de temps spécifiques jusqu'à 5 heures après l'administration du médicament et analysés pour l'activité choline estérasique selon l'essai
- 15 radiométrique de Johnson & Russel (Johnson C.D and Russel R.L, 1975, Anal. Biochem, 64, 229-238).

Les formulations testées étaient les suivantes :

20 **Formulation 1 :**

9 mg P.S, 8,5 gm huile de soja, 8,5 gm acide oléique, 1.0 gm Labrafil M1944Cs, 0.02 gm gallate d'isopropyle 0.02 gm PHT, 0,02 gm dimercaptol and 0,02 gm butyl paraben.

Formulation 2 :

- 25 5 mg P.S, 1 ml Ethanol (95%), 1.0 gm Lipoid-E80, 0,02 gm α -Tocopherol, 0,21 gm stéarylamine et 8,0 gm d'huile de soja.

Formulation 3 :

6 mg P.S, 3 mg Span 80, 0,6 gm Tween 85, 0,36 gm Stéarylamine et huile d'arachide pour 12 gm.

30

Les résultats de l'inhibition de la choline esterase avec chacune des formulations sont montrés à la figure 5. Ainsi qu'on peut le voir, P.S dissout dans de l'huile de soja sans addition de lipide cationique (formulation 1) était capable d'inhiber environ 20% de l'activité choline estérasique mais l'inhibition n'était pas maintenue pendant

de longues périodes de temps. P.S dissout dans une formulation d'huile de soja
cont nant le lipide cationique continuait à maintenir au-dessus de 20% d'inhibition
d'activité choline estérasique même trois heures après administration du
médicament. L'inhibition la plus prononcée, de plus de 20% pendant plus de 5
5 heures, était atteinte avec l'utilisation de l'huile d'arachide comme vecteur huileux en
combinaison avec le lipide cationique.

EXEMPLE VIII

Effet de l'insuline administrée oralement sur le taux de glucose des rats
10 **diabétiques.**

Méthodes expérimentales

On a injecté à des rats mâles Sabra pesant 200 g i.p la streptozocine à un dosage
de 100 mg/kg, préparé en dissolvant la streptozocine dans du sérum physiologique.
Le pH du sérum physiologique était ajusté à 4,4 avec une solution 0.1N d'acide
15 citrique.

La streptozocine affecte le métabolisme du glucose, et à cette dose vide, l'insuline
endogène en rendant les rats diabétiques. L'effet diabétogénique a été déterminé 24
heures après injection, en surveillant les taux de glucose dans le sang, en utilisant le
20 test avec un ruban de réactif : une goutte de sang de queue de rat a été appliqué sur
le Glucostix[™] (Miles Ltd, Ames Division, Slough, England) test. Le taux de glucose
était déterminé en utilisant le Glucometer II (Miles Lab, Ames Division, Elkhart, USA)
selon les instructions du fabricant. Il doit être souligné que la limite maximum du
glucomètre est de 400 mg/dl.

25 Les rats ont été anesthésiés avec de l'éther et la partie abdominale a été rasée. En
utilisant un scalpel, on a pratiqué une petite ouverture dans les muscles abdominaux
et le péritoine, et l'aire jéjunale des intestins a été sortie et lavée avec du sérum
physiologique.

30 Les diverses formulations lipidiques ont été tout d'abord diluées dans de l'eau bi-
distillée (1:5), doucement mélangées et immédiatement injectées dans le jéjunum
(1 ml de l'émulsion finale résultante contenant 1 mg d'insuline). Les préparations ont

été diluées avant administration, en raison du manque de liquides chez le rat. Les muscles du péritoine et la peau ont ensuite été cousus. Le temps "0" a été choisi avant l'administration du médicament.

- 5 Le restant de l'expérience a été effectué alors que les animaux étaient éveillés et du sang a été prélevé de la queue des rats à des intervalles de temps donnés.

Les formulations testées étaient les suivantes :

- 10 **Formulation positive** : la formulation SEOF/insuline montrée au tableau VI (N°4), qui fournit des gouttelettes d'émulsion chargées positivement.

Formulation négative : la même formulation que la formulation positive sans l'oleylamine, qui fournit des gouttelettes d'émulsion chargées négativement.

- 15 **Formulation à blanc** : une formulation similaire à la formulation positive sans insuline.

Suspension aqueuse d'insuline : une suspension d'insuline dans le sérum physiologique.

Préparation d'insuline commerciale : préparation d'insuline mise sur le marché par NOVO.

20

Les résultats sont montrés au tableau IX suivant :

Tableau IX

- 25 **L'effet des différentes formulations lipidiques sur les taux sanguins de glucose après administration intra-jéjunale**

Taux sanguins de glucose mg/dl (% reduction*)

| Temps (min) | Formulation positive N = 6 | Emulsion à blanc N = 3 | Suspension aqueuse d'insuline N = 4 | Insulin NOVO 8 unités commercialisée i.p injection N = 1 |
|-------------|----------------------------------|------------------------------|---|--|
| 0 | > 400 | > 400 | > 400 | > 400 |
| 15 | | | | 253 (37 %) |
| 45 | | | 325 (18 %) | 165 (59 %) |
| 60 | 260 (29 %) | 390 (2.5 %) | | 164 (59 %) |
| 90 | 246 (31 %) | 392 (2 %) | 312 (13 %) | |
| 120 | 237 (30 %) | 374 (6.5 %) | 339 (10 %) | 105 (74 %) |
| 150 | | 375 (6 %) | | |
| 180 | 255 (25 %) | 365 (9 %) | 332 (12 %) | 109 (73 %) |
| 240 | 350 (10 %) | 396 (1 %) | 387 (5 %) | 100 (75 %) |

(*) les pourcentages des taux de glucose dans le sang ont été calculés sur la base de 400 mg/dl au temps 0, même si les niveaux réels étaient plus élevés.

Il peut être noté des résultats montrés au tableau IX, que la dispersion aqueuse de l'insuline n'était pas significativement active, bien qu'une certaine absorption se soit produite comme conséquence de la très haute dose administrée. Il peut être noté que la solution d'insuline mise sur le marché, injectée i.p aux rats diabétiques (8 unités/rat) a réduit notablement le taux de glucose dans le sang montrant la validité de l'utilisation de ces rats comme modèle de comparaison.

La formulation lipidique à blanc qui comprend tous les excipients sauf l'insuline, n'a induit aucun effet hypoglycémique, comme prévu. La formulation positive qui avait des gouttelettes d'émulsion chargées positivement, a permis un effet hypoglycémique bien plus efficace que les effets provoqués par la suspension aqueuse d'insuline.

20 **EXEMPLE IX**

Concentration sérique de progestérone à la suite d'administration de diverses formulations

La progestérone est le composant endogène lipophile qui n'est pas administré par voie orale en raison des effets importants de premier passage. La capacité du SEOF à améliorer sa biodisponibilité par voie orale a été testée dans la présente étude.

- 5 Quatre groupes de rats femelles Sabra, âgées de 24-28 jours (6 rats dans un groupe) ont reçu 3 formulations, contenant de la progestérone et une formulation à blanc. Chaque animal a été alimenté avec à 0,5 ml de la formulation appropriée qui contenait, soit aucun médicament, soit 4 mg de progestérone par kilo de poids.

- 10 Les formulations testées ont été les suivantes :

Formulation à blanc : SEOF, décrit dans l'exemple VI (N°5) dilué au 1:50, avec une quantité d'eau doublement distillée (DDW) sans le médicament.

Suspension : Progestérone suspendue dans DDW

- 15 **Formulation négative :** SEOF, décrit dans l'exemple VI (N°5) dilué au 1:50ème avec DDW, sans oleylamine.

Formulation positive : SEOF, décrit dans l'exemple VI (N°5) dilué au 1:50ème avec DDW.

- 20 Les concentrations de progestérone ont été déterminées par Radio immuno Assay (RIA) en utilisant une trousse avec un tube recouvert ImmChem™, ICN Biomédicals, Inc. Costa Mesa - Californie USA.

- 25 Les résultats sont indiqués à la figure 6. Les paramètres pharmacocinétiques de la progestérone, obtenues à la suite de son administration dans diverses formulations, ainsi que la biodisponibilité relative de ceux du SEOF en comparaison à la suspension sont présentés dans le tableau X.

Tableau X

30 **Données pharmacocinétiques sur les formulations de progestérone**

| | Suspension | Emulsion négative | Emulsion positive |
|----------------------------------|-------------|-------------------|-------------------|
| t_{\max} (hr) | 4 | 2 | 1 |
| C_{\max} (ng/ml) | 29 ± 12 | 47 ± 23 | $62 \pm 21^*$ |
| AUC** (ng.hr/ml) | 69 ± 34 | 99 ± 58 | $131 \pm 47^*$ |
| F' *** relative biodisponibilité | | 1.43 | 1.88 |

(*) Statistiquement significatif $p < 0,05$, comparé à la formulation en suspension, selon le test de Mann-Whitney

(**) AUC a été calculé en utilisant le niveau de 13 ng/ml comme niveau "0"

5

$$(***) \quad F' = \frac{\text{Emulsion AUC (test)}}{\text{Suspension AUC (reference)}}$$

10

EXEMPLE X

Toxicité aiguë du SEOF sur des souris BALB/c

La toxicité aiguë des formulations décrites dans les exemples II - IV, a été examinée sur des souris BALB/c pendant 30 jours. 0.5 ml de chacun des SEOF dilué au 10ème (plus que 300 fois constitue un surdosage) et au 100ème (plus que 30 fois constitue un surdosage) ont été injectés intrapéritonalement au groupe de 4-6 souris. L'état de l'animal a été surveillé pendant plusieurs heures après le processus et ensuite chaque jour, pendant un mois.

Les souris qui ont reçu les deux dilutions de SEOF, décrites dans l'exemple II et la dilution au 100ème de formulation, décrite dans l'exemple IV (contenant 12.5% et 30% de BA) ne montraient aucun signe d'intoxication. La dilution au 10ème de SEOF contenant 12.5% BA n'a causé également aucun effet toxique. D'autre part, on a trouvé que la dilution au 10ème de la formulation, contenant 30% d'alcool benzylique induisait un choc neurologique immédiat avec amélioration partielle ultérieure et mort des animaux après plusieurs jours. Une dose de moitié de la même formulation a causé encore des symptômes neurotoxiques mais les souris sont restées vivantes.

Comme on le constatera au tableau XI, les mêmes effets toxiques ont été observés également après injection de 1.5% et 3% de solution d'eau BA confirmant son rôle dans la toxicité par surdosage de 300 fois de la formulation.

Tableau XI
Toxicité aiguë des SEDDS émulsionnés sur des souris
BALB/c à la suite d'injection Intrapérit néal

| Formulation (%, w/w) | Taux d dilution dans l'eau pour injection (vol*) | Nombre d'animaux par groupe | % de survivants après 30 jours | Effets secondaires |
|--|---|-----------------------------------|--------------------------------------|---|
| Tw.80 25 BA 12.5 OA 3 EO to 100 | 1:10 (0.5) 1:100 (0.5) | 6 6 | 84 100 | aucun aucun |
| Tw.80 25 BA 30 OA 3 EO to 100 | 1:10 (0.5) 1:100 (0.5) 1:10 (0.25) | 6 6 4 | 0 100 100 | choc neurologique aucun choc neurologique |
| BA 3 dans l'eau pour injection | 1:10 (0.5) | 4 | 15 | choc neurologique |
| BA 1.5 dans l'eau pour injection | 1:10 (0.5) | 6 | 100 | choc neurologique |

(*) Vol : Volume de l'émulsion résultant injectée intrapéritonal

- 5 (**) Dilution au 10ème : une dose 300 fois plus grande que la dose devant être administrée.

REVENDICATIONS

1. Une formulation auto-émulsionnable huleuse (SEOF) comprenant un composant huileux et un agent tensioactif, le SEOF étant caractérisé en ce que le composant huileux contient un vecteur huileux et un lipide cationique et, éventuellement, un alcool gras huileux lipophile, l'émulsion huile dans l'eau qui se forme par mélange du SEOF, ayant des gouttelettes huileuses qui sont chargées positivement.
2. Un SEOF selon la revendication 1° dans lequel lesdits lipides cationiques sont des alcoylamines grasses en C_{10} à C_{24} et des alcanoylamines grasses en C_{12} à C_{24} .
3. Un SEOF selon la revendication 2° dans lequel lesdits lipides cationiques des alcoylamines grasses en C_{12} à C_{18} et des alcanoylamines grasses en C_{12} à C_{18} .
4. Un SEOF selon la revendication 3° dans lequel ledit lipide cationique est la stéarylamine ou l'oleylamine.
5. Un SEOF selon l'une des revendications précédentes dans lequel ledit vecteur huileux est formé d'un ou plusieurs composants du groupe qui consiste en une huile de triglycéride à chaîne moyenne (MCT), une huile de triglycéride à longue chaîne (LCT) et un dérivé huileux d'acide gras.
6. Un SEOF selon l'une des revendications précédentes dans lequel ledit LCT est formé d'un ou plusieurs composants du groupe qui consiste en de l'huile d'arachide, de l'huile de carthame, de l'huile de sésame, de l'huile de soja, de l'huile de graine de coton et de l'huile d'olive.
7. Un SEOF selon l'une des revendications précédentes dans lequel lesdits dérivés d'acides gras huileux sont des esters d'acides gras avec un alcool.

8. Un SEOF selon la revendication 7° dans lequel ledit dérivé est de l'oléate d'éthyle.
9. Un SEOF selon l'une des revendications précédentes dans lequel ledit alcool
5 huileux gras est un alcool dérivé d'acide gras ou un alcool arylique.
10. Un SEOF selon la revendication 9° dans lequel ledit alcool gras est l'alcool oleylique, l'alcool benzylique ou une combinaison des deux.
- 10 11. Un SEOF selon l'une des revendications précédentes dans lequel ledit agent tensioactif est un agent tensioactif non-ionique.
12. L'agent tensioactif non-ionique selon la revendication 11° est le Tween^(®) ou le Span^(®).
15
13. Une préparation pharmaceutique pour l'administration d'un médicament hydrophobe contenant un vecteur et une quantité efficace dudit médicament, le vecteur étant un SEOF selon l'une des revendications 1 à 11°.
- 20 14. La préparation pharmaceutique de la revendication 13° dans laquelle le médicament est de l'insuline ou un de ses dérivés.
15. Une préparation pharmaceutique selon la revendication 12° pour l'administration systémique par voie orale dudit médicament.
25
16. Un système de délivrance d'un médicament pour l'administration systémique par voie orale d'un médicament hydrophobe contenant un SEOF selon l'une des revendications 1 à 11° encapsulé dans une capsule.
- 30 17. Un système de délivrance d'un médicament selon la revendication 14° dans lequel ladite capsule est un capsule de gélatine molle ou dure.

18. Un système de délivrance d'un médicament selon la revendication 9° dans lequel ladite capsule est gastro-protégée.
- 5 19. Un procédé de traitement pour un sujet ayant besoin, avec un médicament hydrophobe, contenant ledit médicament à administrer dans un véhicule essentiellement huileux, le procédé étant caractérisé en ce que ledit véhicule est un SEOF selon l'une des revendications 1 à 11°.
- 10 20. Un procédé selon la revendication 18° pour l'administration systémique par voie orale d'un médicament hydrophobe.
21. Un procédé selon la revendication 19° dans lequel ledit SEOF est encapsulé dans une capsule.
- 15 22. Un procédé pour la production d'une émulsion qui comprend le fait de mélanger un SEOF selon l'une des revendications 1 à 11° avec un milieu aqueux.
- 20 23. Un procédé selon la revendication 21° pour la préparation d'une émulsion huile dans l'eau qui contient un médicament hydrophobe, le procédé contenant l'incorporation dudit médicament dans un SEOF selon l'une des revendications 1 à 11°.

Figure 1

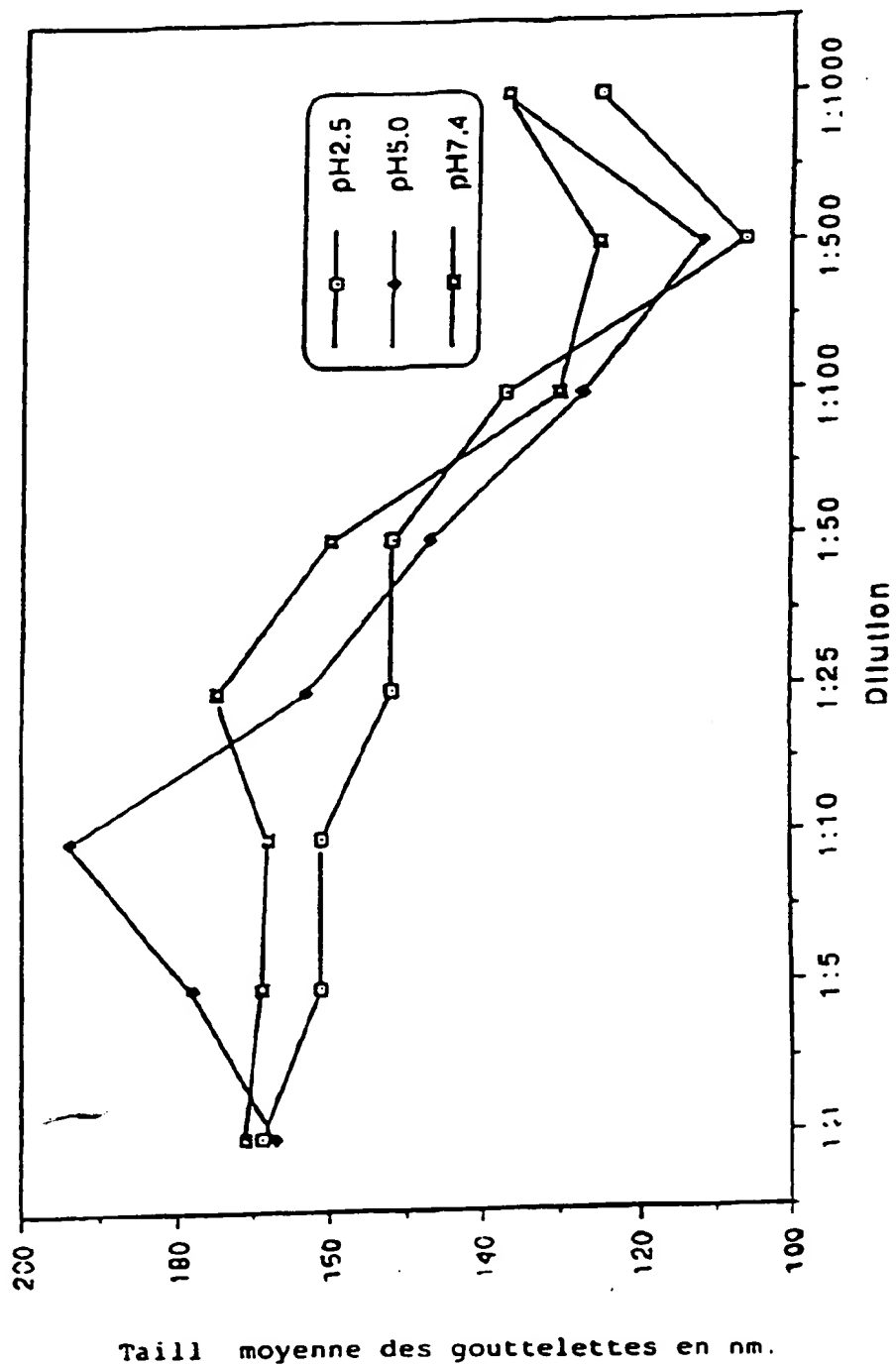
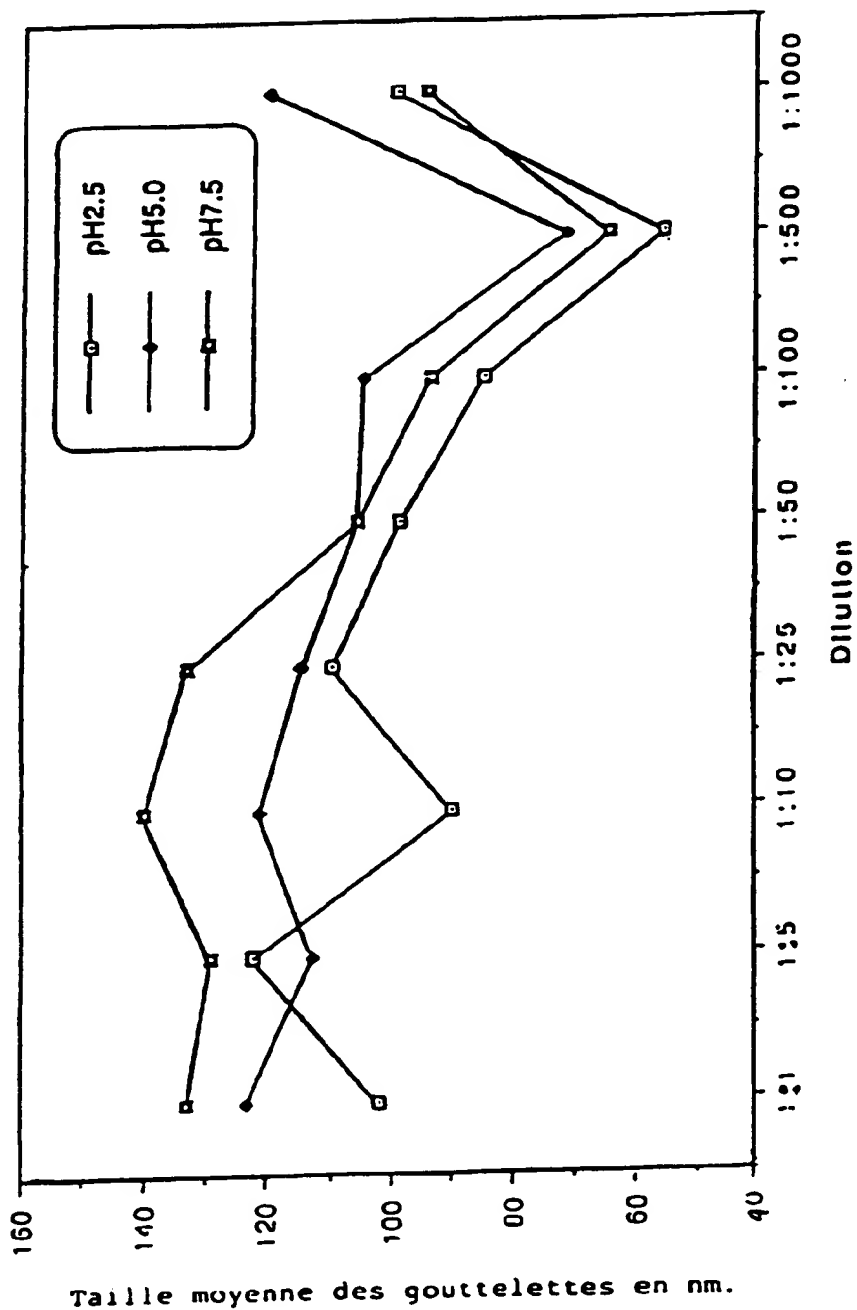
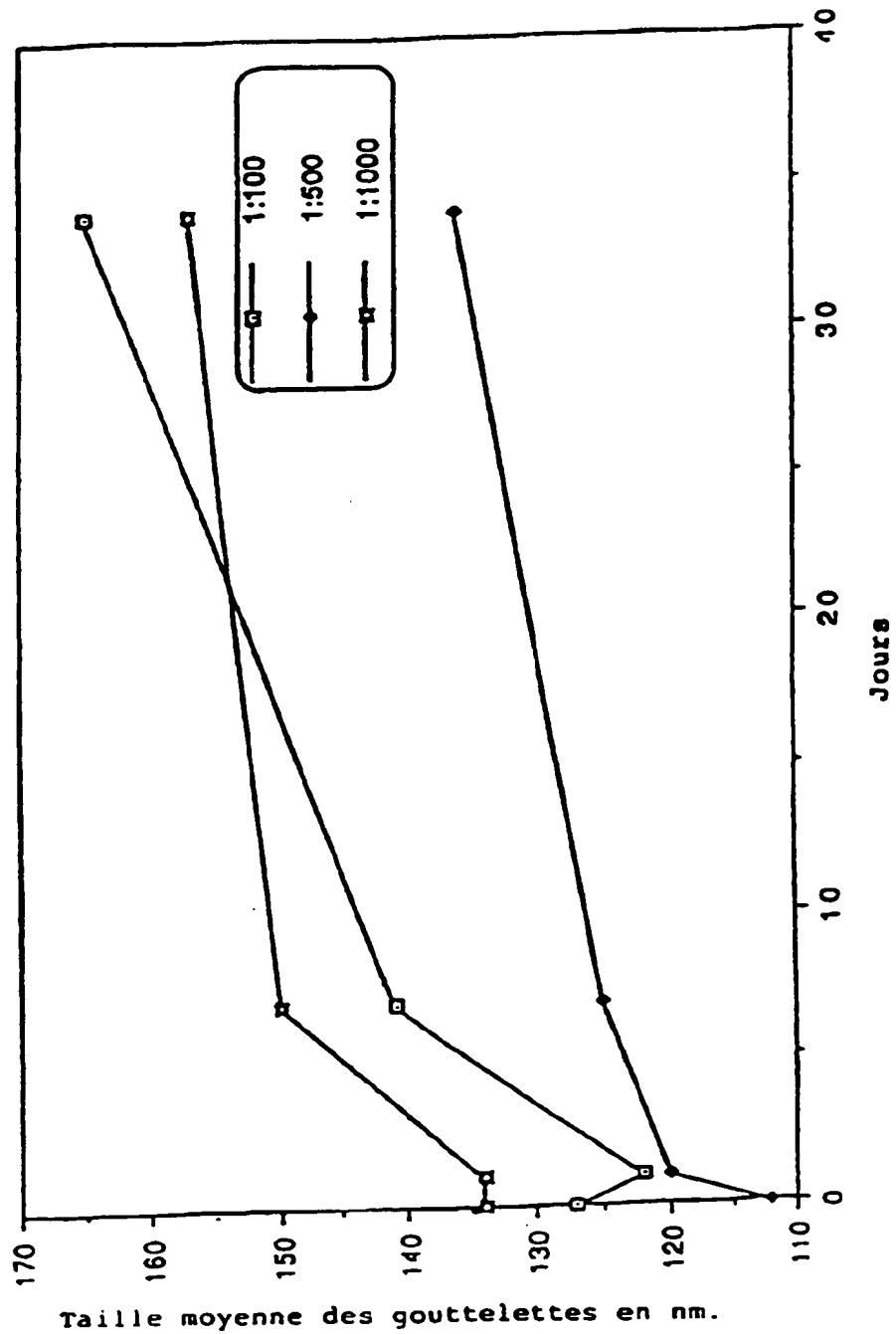


Figure 2



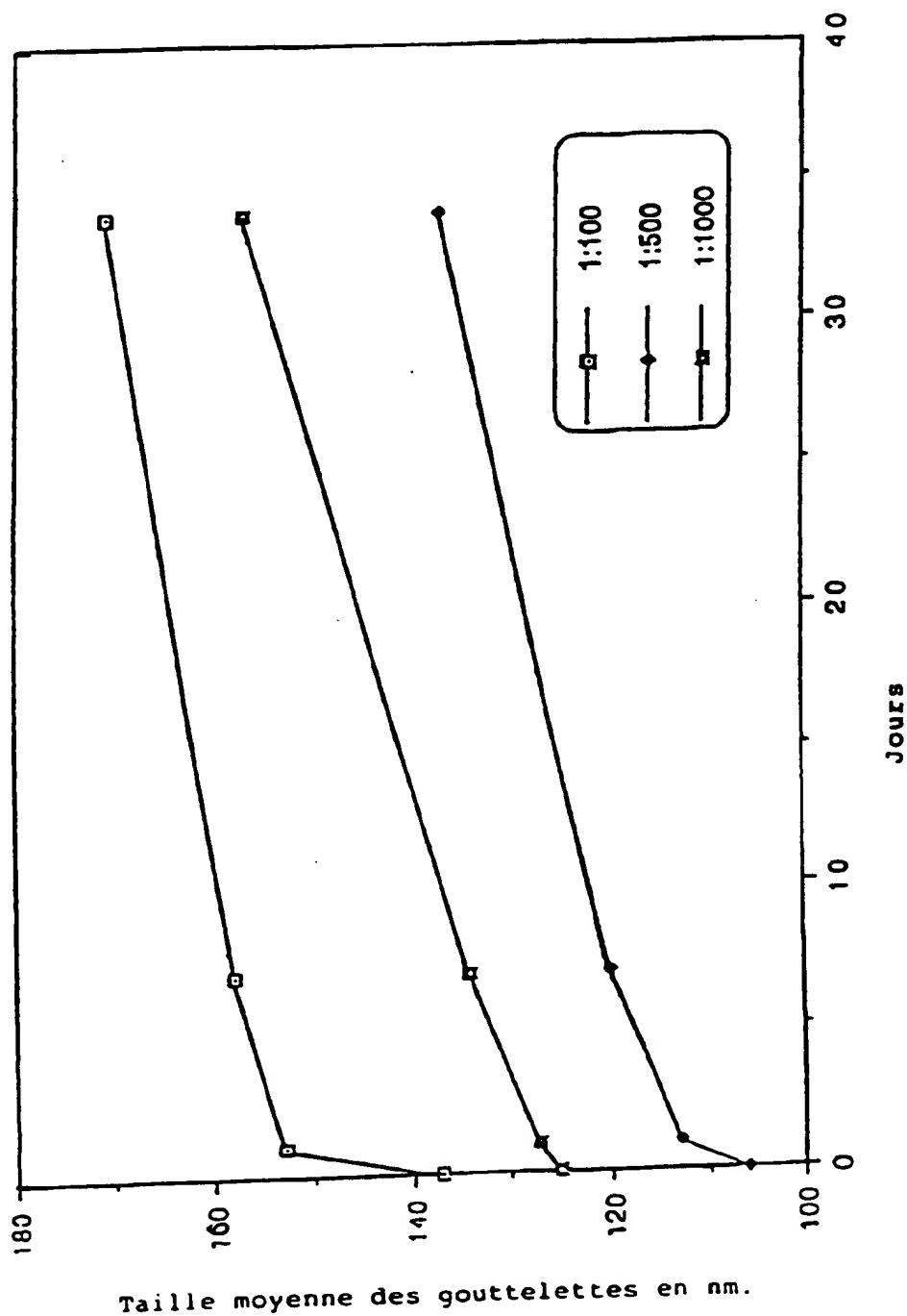
3/6

Figure 3



4/6

Figure 4



5/6

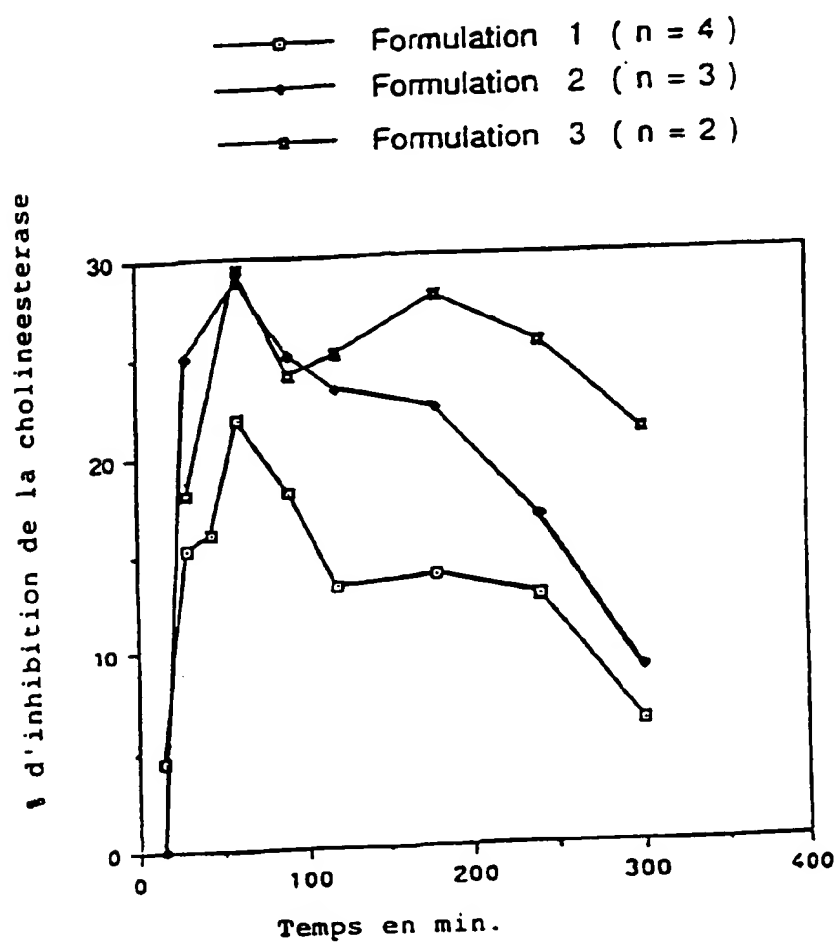
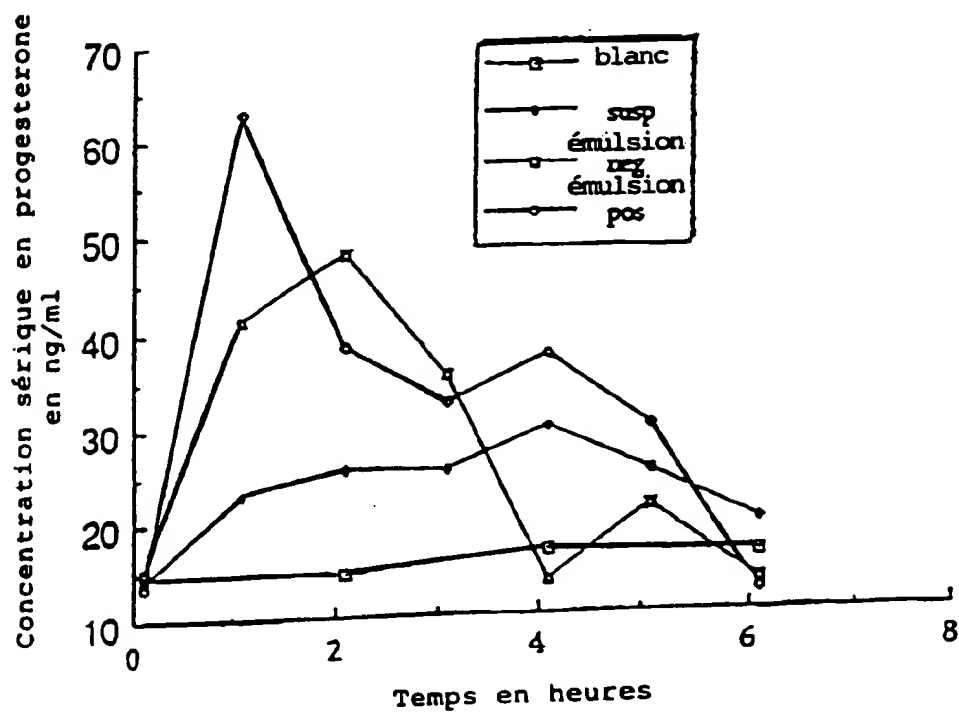
Figure 5

Figure 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In: National Application No
PLI/FR 95/00531

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K9/107 A61K9/48 A61K7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| E | WO,A,95 12384 (YISSUM RESEARCH DEV. COMP. OF THE HEBREW UNIV. OF JERUSALEM) 11 May 1995 see the whole document --- | 1-23 |
| X | FR,A,2 455 458 (KUREHA KAGAKU KK) 28 November 1980 see page 14; table 1 see page 16 - page 17; example 3 see claims 1-9 --- | 1-4, 14 |
| X | EP,A,0 394 847 (BASDF CORPORATION) 31 October 1990 see page 2, line 49 - page 3, line 35 see page 6, line 1 - line 17 see page 9; table VII --- -/-- | 1-5, 7, 11-13 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 1996

Date of mailing of the international search report

30.01.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Boulois, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Patent Application No.
PCT/FR 95/00531

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | EP,A,0 416 527 (THE GREEN CORPORATION) 13 March 1991 see page 3, line 48 - line 58 see page 4 - page 5; example 2 see claims 1-4 ---- | 1-4, 13, 15-23 |
| X | WO,A,93 18852 (YISSUM RES. DEV. COMP. OF THE HEBREW UNIV. OF JERUSALEM) 30 September 1993 see page 4, line 6 - page 5, line 32 see page 19; table XII see page 26; table 2 see page 36 - page 38; example 16 ---- | 1-6, 9-13, 15 |
| A | FR,A,2 372 365 (R.P. SCHERER LTD) 23 June 1978 see claims 1-3, 5, 6, 8-11 ---- | 1 |
| A | WO,A,93 15736 (PHARMOS CORPORATION) 19 August 1993 see page 30 - page 33; examples 36-56 see claims 1, 3, 4 ---- | 1 |
| A | EP,A,0 355 604 (LEDERLE JAPAN LTD) 28 February 1990 see page 3, line 45 - line 51 see page 4, line 56 - page 5, line 52 see page 6, line 25 - line 28 ----- | 1 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PC/FR 95/00531

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|--|--|
| WO-A-9512384 | 11-05-95 | NONE | |
| FR-A-2455458 | 28-11-80 | JP-C- 1680663 JP-B- 2040644 JP-A- 55153713 CA-A- 1143656 DE-A- 3016976 GB-A, B 2050287 | 13-07-92 12-09-90 29-11-80 29-03-83 13-11-80 07-01-81 |
| EP-A-394847 | 31-10-90 | US-A- 5084087 AU-B- 626411 AU-B- 5380690 CA-A- 2015269 DE-D- 69004731 DE-T- 69004731 ES-T- 2059866 HU-B- 207199 JP-A- 3056404 | 28-01-92 30-07-92 01-11-90 26-10-90 05-01-94 17-03-94 16-11-94 29-03-93 12-03-91 |
| EP-A-416527 | 13-03-91 | JP-A- 3095118 CA-A- 2024804 | 19-04-91 08-03-91 |
| WO-A-9318852 | 30-09-93 | AU-B- 4368393 CA-A- 2132210 EP-A- 0630286 JP-T- 7504848 | 21-10-93 30-09-93 28-12-94 01-06-95 |
| FR-A-2372365 | 23-06-78 | DE-A- 2654077 AU-B- 505755 AU-B- 3077677 BE-A- 861264 CH-A- 624194 GB-A- 1538821 JP-A- 53069928 NL-A- 7711420 SE-B- 432986 SE-A- 7712326 US-A- 4194527 | 16-03-78 29-11-79 24-05-79 16-03-78 15-07-81 24-01-79 21-06-78 31-05-78 30-04-84 30-05-78 25-03-80 |
| WO-A-9315736 | 19-08-93 | AU-B- 3721593 | 03-09-93 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

Int'l Application No

PLI/FR 95/00531

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO-A-9315736 | | CA-A- 2130357 | 19-08-93 |
| | | EP-A- 0626850 | 07-12-94 |
| | | US-A- 5472706 | 05-12-95 |
| | | ZA-A- 9301143 | 14-09-93 |
| ----- | | | |
| EP-A-355604 | 28-02-90 | DE-D- 68912850 | 17-03-94 |
| | | DE-T- 68912850 | 16-06-94 |
| | | ES-T- 2061831 | 16-12-94 |
| | | JP-A- 2138211 | 28-05-90 |
| | | US-A- 5004756 | 02-04-91 |
| | | US-A- 5182267 | 26-01-93 |
| ----- | | | |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De 1^{re} Internationale No
PLI/FR 95/00531

| | | |
|---|---|--|
| A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 6 A61K9/107 A61K9/48 A61K7/00 | | |
| Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB | | |
| B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 A61K | | |
| Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche | | |
| Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| E | WO,A,95 12384 (YISSUM RESEARCH DEV. COMP. OF THE HEBREW UNIV. OF JERUSALEM) 11 Mai 1995 voir le document en entier --- | 1-23 |
| X | FR,A,2 455 458 (KUREHA KAGAKU KK) 28 Novembre 1980 voir page 14; tableau 1 voir page 16 - page 17; exemple 3 voir revendications 1-9 --- | 1-4, 14 |
| X | EP,A,0 394 847 (BASDF CORPORATION) 31 Octobre 1990 voir page 2, ligne 49 - page 3, ligne 35 voir page 6, ligne 1 - ligne 17 voir page 9; tableau VII --- <div style="text-align: center;">-/--</div> | 1-5, 7, 11-13 |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div> | | |
| <div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (elle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div> | | |
| Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center; font-weight: bold;">9 Janvier 1996</div> | | Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center; font-weight: bold;">30.01.96</div> |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tél. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+ 31-70) 340-3016 | | Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Boulois, D</div> |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De la Internationale No
PLI/FR 95/00531

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS | | |
|---|---|-------------------------------|
| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
| X | EP,A,0 416 527 (THE GREEN CORPORATION) 13 Mars 1991 voir page 3, ligne 48 - ligne 58 voir page 4 - page 5; exemple 2 voir revendications 1-4 --- | 1-4, 13, 15-23 |
| X | WO,A,93 18852 (YISSUM RES. DEV. COMP. OF THE HEBREW UNIV. OF JERUSALEM) 30 Septembre 1993 voir page 4, ligne 6 - page 5, ligne 32 voir page 19; tableau XII voir page 26; tableau 2 voir page 36 - page 38; exemple 16 --- | 1-6, 9-13, 15 |
| A | FR,A,2 372 365 (R.P. SCHERER LTD) 23 Juin 1978 voir revendications 1-3, 5, 6, 8-11 --- | 1 |
| A | WO,A,93 15736 (PHARMOS CORPORATION) 19 Août 1993 voir page 30 - page 33; exemples 36-56 voir revendications 1, 3, 4 --- | 1 |
| A | EP,A,0 355 604 (LEDERLE JAPAN LTD) 28 Février 1990 voir page 3, ligne 45 - ligne 51 voir page 4, ligne 56 - page 5, ligne 52 voir page 6, ligne 25 - ligne 28 ----- | 1 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De la recherche internationale No

PLI/FR 95/00531

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|--|--|
| WO-A-9512384 | 11-05-95 | AUCUN | |
| FR-A-2455458 | 28-11-80 | JP-C- 1680663 JP-B- 2040644 JP-A- 55153713 CA-A- 1143656 DE-A- 3016976 GB-A, B 2050287 | 13-07-92 12-09-90 29-11-80 29-03-83 13-11-80 07-01-81 |
| EP-A-394847 | 31-10-90 | US-A- 5084087 AU-B- 626411 AU-B- 5380690 CA-A- 2015269 DE-D- 69004731 DE-T- 69004731 ES-T- 2059866 HU-B- 207199 JP-A- 3056404 | 28-01-92 30-07-92 01-11-90 26-10-90 05-01-94 17-03-94 16-11-94 29-03-93 12-03-91 |
| EP-A-416527 | 13-03-91 | JP-A- 3095118 CA-A- 2024804 | 19-04-91 08-03-91 |
| WO-A-9318852 | 30-09-93 | AU-B- 4368393 CA-A- 2132210 EP-A- 0630286 JP-T- 7504848 | 21-10-93 30-09-93 28-12-94 01-06-95 |
| FR-A-2372365 | 23-06-78 | DE-A- 2654077 AU-B- 505755 AU-B- 3077677 BE-A- 861264 CH-A- 624194 GB-A- 1538821 JP-A- 53069928 NL-A- 7711420 SE-B- 432986 SE-A- 7712326 US-A- 4194527 | 16-03-78 29-11-79 24-05-79 16-03-78 15-07-81 24-01-79 21-06-78 31-05-78 30-04-84 30-05-78 25-03-80 |
| WO-A-9315736 | 19-08-93 | AU-B- 3721593 | 03-09-93 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De la famille internationale No

PCT/FR 95/00531

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| W0-A-9315736 | | CA-A- 213035 | 19-08-93 |
| | | EP-A- 0626850 | 07-12-94 |
| | | US-A- 5472706 | 05-12-95 |
| | | ZA-A- 9301143 | 14-09-93 |
| ----- | | | |
| EP-A-355604 | 28-02-90 | DE-D- 68912850 | 17-03-94 |
| | | DE-T- 68912850 | 16-06-94 |
| | | ES-T- 2061831 | 16-12-94 |
| | | JP-A- 2138211 | 28-05-90 |
| | | US-A- 5004756 | 02-04-91 |
| | | US-A- 5182267 | 26-01-93 |
| ----- | | | |